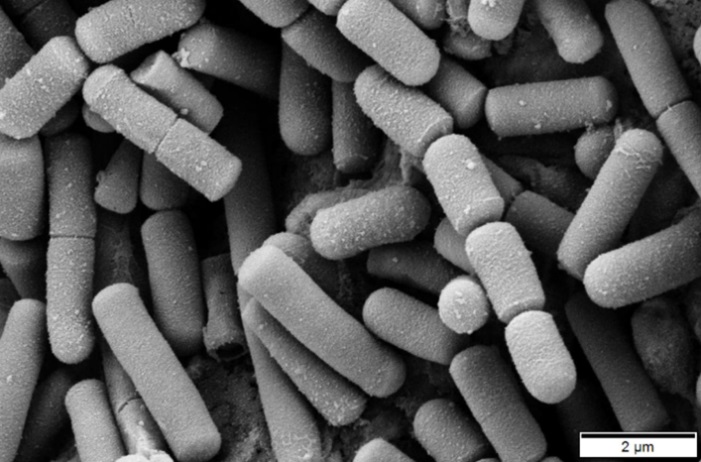
# Grupa *Bacillus cereus*



Źródło: Mogana Das Murtey and Patchamuthu Ramasamy [CC BY-SA 3.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0)]

R:\EpiBaza\strona ISP\Mikobiologia - info o patogenach\Obrazki\Bakterie - Kierownik BN - z domeny publicznej\PHIL_1058.tif

Źródło: CDC/ Dr. William A. Clark (https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=1058)

**Streszczenie**

Bakterie z grupy *Bacillus cereus* to laseczki powszechnie kolonizujące glebę oraz wodę. Powszechność występowania laseczek tej grupy w środowisku może być przyczyną zanieczyszczenia produktów spożywczych. Bakterie z grupy *B. cereus* izolowane są głównie z ryżu, makaronów, mięsa, warzyw, produktów mleczarskich, przypraw oraz żywności gotowej do spożycia. Spożycie zanieczyszczonych produktów spożywczych może być szczególnie niebezpieczne dla małych dzieci, kobiet w ciąży, osób starszych oraz osób   
z osłabionym układem odpornościowym. Zakażenia o charakterze biegunkowym powodowane są przez dwie enterotoksyny: hemolityczną HBL i niehemolityczną NHE. Wymiotna postać zatruć pokarmowych z udziałem *B. cereus* jest efektem intoksykacji toksyną wymiotną (cereulidyną). Duże zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności związane jest głównie z wytwarzaniem przez te bakterie przetrwalników (spor). Przetrwalniki są niezwykle odporne na działanie niesprzyjających czynników środowiskowych, w tym wysokich i niskich temperatur czy ograniczonego dostępu do wody i składników pokarmowych. Zdolność bakterii z grupy *B. cereus* do formowania ciepłoopornych przetrwalników jest szczególne niebezpieczna w przemyśle spożywczym, ponieważ przeżywające proces pasteryzacji spory mogą wpływać negatywnie na jakość końcowego produktu lub przyczyniać się do wtórnego zanieczyszczenia żywności.

**1. Wstęp**

Bakterie grupy *B. cereus* są to Gram-dodatnie, ruchliwe, tlenowe lub względnie beztlenowe laseczki zdolne do wytwarzania form przetrwalnych (spor). *B. cereus* zdolne są do wzrostu w szerokim zakresie temperatur od 5ºC do 50ºC. Temperatura optymalna dla ich wzrostu waha się w granicach 28-35ºC. Wykazują wzrost w pH od 4,9-9,3 przy optymalnym pH 6-7. Przetrwalniki *B. cereus* są w stanie przetrwać w soku żołądkowym przy pH 1-5,2 (Clavel i wsp., 2004).

Grupa *B. cereus* obejmuje co najmniej dziewięć gatunków, a w jej skład wchodzą: *B. cereus* sensu stricto, *B. thuringiensis,* *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*,   
*B. anthracis*, *B. toyonensis*, *B. wiedmanni* oraz *B. cytotoxicus* (Guinebretière i wsp., 2013). Grupa *B. cereus* określana jest także jako *B. cereus* sensu lato.

Grupa *B. cereus* wykazuje wiele podobieństw zarówno pod względem fenotypowym, jak i genetycznym (Drobniewski, 1993; Carlson i wsp., 1996; Kotiranta i wsp., 2000). Pod względem morfologicznym długość komórek bakteryjnych wynosi > 0,9 µm.   
W centralnej bądź terminalnej części komórki znajdują się eliptyczne lub cylindryczne spory. Sporulacja obserwowana jest po 2-3 dniach w większości mediów mikrobiologicznych. *B. cereus* oraz *B.* *thuringiensis* tracą zdolność do ruchu już w pierwszych fazach sporulacji. Spory bakterii grupy *B. cereus* wykazują ciepłooporność (Choma i wsp., 2000; Ghosh i wsp., 2009). Czas redukcji dziesiętnej spor w 100ºC wynosi 2,2-5,4 min.

Kryteria umożliwiające różnicowanie wybranych bakterii grupy *Bacillus cereus* zostały przedstawione w tab.1.

Tab. 1. Kryteria różnicowania wybranych bakterii grupy *Bacillus cereus*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Gatunek | Hemoliza | Barwa,  morfologia  kolonii | Ruchliwość | Wrażliwość na penicylinę | Produkcja kryształów białkowych |
|
| *B. cereus* | + | Białe | + | - | - |
| *B. anthracis* | - | Białe | - | + | - |
| *B. thuringiensis* | + | Białe/Szare | + | - | + |
| *B. mycoides* | (+) | Wzrost | - | - | - |

Grupa *B. cereus* wykazuje wiele podobieństw w ujęciu genetycznym, o czym świadczy m.in. podobieństwo sekwencji 16S rDNA na poziomie 99-100% (Ash i wsp., 1991; Bavykin i wsp., 2004; Hakovirta i wsp., 2016).

**2. Występowanie**

Naturalnym rezerwuarem laseczek z grupy *B. cereus* jest przede wszystkim rozkładająca się materia organiczna, warzywa, przewody pokarmowe bezkręgowców, gleba, woda oraz skażony przetrwalnikami pokarm (Vilain i wsp., 2006). *B. cereus* wchodzi w skład mikobiomu owadów oraz strefy korzeniowej niektórych roślin. Bakterie z grupy *B. cereus* izolowane są także z żywności, głównie: ryżu, potraw mącznych (makarony), wyrobów cukierniczych (ciast, puddingów), sosów, surowego i pasteryzowanego mleka oraz przetworów mleczarskich, mięsa i przetworów mięsnych, owoców morza, a także przypraw (Martinez –Blanch i wsp., 2009; Czubkowska i wsp., 2013;Messelhäusser i wsp., 2014; Hariram i Labbé, 2016).

Pierwotnym źródłem zanieczyszczenia jest gleba, w której stwierdza się najwięcej komórek wegetatywnych i przetrwalników *B. cereus*, od 102 do 107 jtk w 1 g. Z gleby przetrwalniki mogą przedostawać się na powierzchnię warzyw i owoców, bądź też do paszy,  
 a następnie do przewodu pokarmowego zwierząt. Szeroko rozpowszechnione występowanie tej bakterii w glebie może być przyczyną zanieczyszczenia produktów głównie pochodzenia roślinnego. Bakterie z grupy *B. cereus* stanowią ponadto trudny do całkowitego wyeliminowania składnik mikroflory mleka surowego. *B. cereus* do mleka dostaje się zarówno w formie komórek wegetatywnych, jak i przetrwalników. Bakterie te należą do szybko kiełkujących w mleku. *B. cereus* kiełkują w ciągu 24 godzin przetrzymywania mleka w 20°C, uprzednio ogrzewanego w 72°C przez 10 sekund (Berthold i wsp., 2002, Berthold   
i wsp., 2009). Linie przetwarzania mleka są również wskazywane jako źródło wtórnego zanieczyszczenia żywności pasteryzowanej. Wykazano, że *B. cereus* ma potencjał do współtworzenia biofilmu, szczególnie trudnego w eliminacji i niebezpiecznego w przemyśle spożywczym (Maćkiw i wsp., 2019, Bartoszewicz i wsp., 2017, Bednarczyk i wsp., 2008)

Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych wprowadzono badania w kierunku oznaczania liczby przypuszczalnych *B. cereus* dla preparatów w proszku do początkowego żywienia niemowląt i żywności dietetycznej w proszku specjalnego przeznaczenia medycznego przeznaczonej dla niemowląt w wieku do sześciu miesięcy. Kontrola żywności dla niemowląt w kierunku obecności *B. cereus* jest niezwykle ważna ze względu na duże ryzyko spożycia przez wrażliwych konsumentów. Dodanie ciepłej wody do preparatów w proszku dla niemowląt w której obecne są spory bakterii z grupy *B. cereus* może doprowadzić do namnażania się bakterii.

Duże zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności z punktu widzenia zarówno konsumenta jak i producenta stanowi zdolność do tworzenia przez laseczki grupy *Bacillus* biofilmu (Oosthuizen i wsp., 2002; Oder i wsp., 2017). Kolonizacja różnego rodzaju powierzchni przez biofilm bakteryjny stanowi duże wyzwanie ze względu na zmniejszenie skuteczności stosowanych w dezynfekcji środków, a także może znacząco wpływać na skuteczną terapię   
w przypadku szczepów wykazujących zdolność do jego produkcji poprzez zmniejszenie dostępności antybiotyków.

Zagrożeniem dla konsumenta może być również spożywanie produktów poddanych delikatnej obróbce cieplnej (Kim i Foegeding, 1990; Hanson i wsp., 2005; Gosh   
i Zhang, 2009). Związane jest to ze zdolnością do wzrostu przetrwalników niektórych szczepów *B. cereus* w temperaturze 4-5ºC. Delikatna obróbka cieplna może być bodźcem do kiełkowania przetrwalników, zwiększając tym samym ryzyko infekcji.

Ryzyko infekcji można zmniejszyć poprzez niespożywanie produktów poddanych obróbce cieplnej i pozostawionych w temperaturze pokojowej, sprzyjającej   
kiełkowaniu przetrwalników i produkcji ciepłostałych toksyn.

**3. Chorobotwórczość**

Grupa *B. cereus* charakteryzuje się różnorodnością pod względem chorobotwórczości. *B*. *anthracis* jest czynnikiem etiologicznym wąglika (Thorne i wsp., 1993; Helgason i wsp., 2000). Ze względu na swoja wysoką patogenność może być wykorzystany jako broń biologiczna. *B. cereus* *s*ensu stricto prowadzi głównie do zatruć o charakterze emetycznym bądź biegunkowym *B. mycoides* i *B. pseudomycoides* są czynnikami zatruć pokarmowych zwierząt oraz w sporadycznych przypadkach u ludzi. *B. thuringiensis* wytwarza wewnątrzkomórkowe kryształy białkowe toksyczne dla larw owadów i jest skutecznie stosowany w biologicznej ochronie roślin przed szkodnikami.

Z żywności najczęściej izolowany jest *B. cereus s*ensu stricto*.* *B. cereus* został po raz pierwszy wyizolowany w 1887 z powierza obory (Frankland i Frankland, 1887). W 1955 roku Steinar Hauge udowodnił powodowanie zatruć pokarmowych przez *B. cereus* poprzez spożycie inokulowanego bakteriami *B. cereus* sosu waniliowego (Hauge, 1995).

Chorobotwórczość laseczek z grupy *B. cereus* związana jest z inwazyjnością szczepu oraz zdolnością do produkcji toksyn oraz enzymów wpływających toksycznie na organizm człowieka. Wyróżnić można trzy typy fosfolipazy C, toksynę emetyczną, kompleksy enterotoksyn HBL, NHE, hemolizynę I (cereolizynę), hemolizynę II, hemolizynę III, hemolizynę IV (cytotoksynę K), enterotoksynę T, entrotoksynę FM, sfingomielinazę (Ramarao i Sanchis, 2013). Toksyny prowadzą głownie do wzrostu przepuszczalności naczyń, sekrecji płynów do jelita cienkiego, a także zmian o charakterze martwiczym. *Bacillus cereus* prowadzi do zatruć o charakterze biegunkowym oraz wymiotnym (emetycznym).

Do wywołania infekcji biegunkowych niezbędne jest spożycie żywych komórek   
*B. cereus.* Dawka infekcyjna wynosi 103-107 jtk*.* Wegetatywne komórki *B. cereus* wytwarzają enterotoksyny w jelicie cienkim człowieka, w fazie wzrostu logarytmicznego bakterii. Optymalna temperatura dla produkcji enterotoksyn to 37°C. Zakażenia o charakterze biegunkowym powodowane są przez dwie entrotoksyny: hemolityczną HBL i niehemolityczną NHE. Hemolizyna HBL należy do termostabilnych enterotoksyn. Hemolizynę tworzą trzy komponenty: białko wiążące B(binding protein B) o masie 37 KDa kodowane przez gen *hblA*, oraz składniki lityczne: L1 o masie 38 KDa kodowany przez *hblC* i L2 o masie 46 KDa kodowany przez *hblD* (Lindbäck i wsp., 2004; Ehling-Shulz i wsp., 2006). HBL wpływa na przepuszczalność naczyń włosowatych jelita grubego, co w konsekwencji prowadzi do biegunki. Do wywołania objawów chorobowych niezbędne jest produkowanie wszystkich trzech komponentów toksyny HBL. Niehemolityczna enterotoksyna NHE (ang. nonhemolytic enterotoxin) toksyna składa się z trzech komponentów: NheA - o masie 41 kDa, NheB -39 kDa, NheC - 105 kDa kodowanych następująco przez geny *nheA, nheB, nheC* zorganizowanych w jednym operonie (Granum i wsp., 1999; Forghani i wsp., 2014).Do wywołania objawów chorobowych niezbędne jest występowanie białek NheB i NheC. Najsilniejsze działanie toksyny obserwowane jest w momencie produkcji wszystkich trzech komponentów białkowych. Zatrucia objawiają się wodnistą biegunką oraz bólami brzucha, które pojawiają się po upływie 8 do 16 godzin od spożycia zanieczyszczonej żywności. Objawy utrzymują się zwykle od 12 do 24 godzin. Do rzadkości należą przypadki biegunek trwających kilka dni. Objawy mogą być zbliżone do zatruć z udziałem *Clostridium perfingens,* a także *Staphylococcus aureus*.

Wymiotna postać zatruć pokarmowych z udziałem *B. cereus* jest efektem intoksykacji toksyną wymiotną (cereulidyną), czyli wprowadzenia wyprodukowanej przez szczepy *B. cereus* toksyny do organizmu człowieka wraz z pokarmem. Cereulidyna ma formę pierścienia, zbudowana jest z trzech powtórzeń D-*O*-Leu-D-Ala-L-*O*-Val-L-Val o łącznej masie 1,2 kD. Cereulidyna jest jedną z najbardziej opornych na czynniki zewnętrzne enterotoksyn. Jest toksyną zarówno ciepłostabilną jak i kwasoodporną. Nie traci aktywności w wyniku ogrzewania wtemperaturze 121°C przez 90 minut oraz w pH 2-11 przez 2 godziny. Nie jest rozkładana przez enzymy trawienne, trypsynę i pepsynę. Ilość produkowanej cereulidyny związana jest z warunkami wzrostu drobnoustrojów, pH, temperatury, a także dostępności tlenu. Optymalną temperaturą do tworzenia toksyny jest 21°C. Natomiast znacznie ograniczone wytwarzanie cereulidyny obserwowane jest w temperaturze 8-10°C i powyżej 35°C. Obecność tlenu w środowisku znacznie zwiększa ilość tworzonej toksyny. Przy spadku zawartości tlenu poniżej 1,6% dochodzi do zahamowania jej produkcji. Pakowanie żywności w modyfikowanej atmosferze azotu może więc zapobiegać w znacznym stopniu powstawaniu cereulidyny w czasie przechowywania produktów spożywczych. Szczepy emetyczne: nie wytwarzają enzymu amylolitycznego, wykazują słabą aktywność hemolityczną, a także wykazują wyraźne wymagania odnośnie temperatury wzrostu (wzrost w 48ºC, nie rosną w temp. 10ºC). Intoksykacja toksyną wymiotną rozwija się bardzo szybko i przebiega gwałtownie. Charakterystyczne objawy zatrucia, w postaci nudności i wymiotów, obserwowane są już po 30 min do 6 godzin od spożycia żywności zawierającej toksyny (Glaset i wsp., 2014). Objawy chorobowe mogą utrzymywać się przez około 24 godziny. Objawy często przypominają zatrucia enterotoksyną gronkowcową. Zatrucie może prowadzić do rozwoju ostrej niewydolności wątroby, zespołu hemolityczno-mocznicowego, obrzęku mózgu i śmierci. Dawka wywołująca wymioty to 0,02-1,28 μg cereulidyny. Dawką toksyczną dla dorosłego człowieka jest 400-500 µg cereulidyny. Objawy chorobowe utrzymują się od 6 do 24 godzin po spożyciu pokarmu, przypominają zatrucia enterotoksyną gronkowcową. Jak wcześniej wspomniano toksyna emetyczna jest ciepłostabilna, a co za tym idzie kontaminacja żywności przechowywanej w temperaturze pokojowej oraz podgrzewanej stanowić może realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

Bakterie z grupy *B. cereus* poza wywoływaniem zatruć o charakterze żołądkowo-jelitowym mogą prowadzić do sepsy u osób z obniżoną odpornością, immunosupresją, kobiet w ciąży oraz niemowląt. Prowadzą do zakażeń gałek ocznych, w tym rogówki. Produkcja toksyny HBL może prowadzić do zmian w przenikalności naczyniowej w przypadkach martwiczego zapalenia skóry, a także martwiczej infekcji opon mózgowych. Komórki *B. cereus* izolowane są również z zakażeń ran otwartych, zakażeń przyrannych i pooperacyjnych.

W latach 2000-2013 w krajach Unii Europejskiej odnotowano 15 ognisk z udziałem *B. cereus,* które były związane z usługami cateringowymi. Ogniska miały miejsce we Włoszech, Hiszpanii, Niemczech, Francji, Belgii, Wielkiej Brytanii i Austrii. Nośnikiem bakterii *B. cereus* były najczęściej różne potrawy na bazie ryżu, puree z ziemniaków, ciasta, zupy, naleśniki, gotowy do spożycia placek mięsny, gotowane warzywa, koktajl z owoców morza i smażone krewetki. W ognisku, w którym uczestniczyła największa grupa ludzi (200 osób, głównie niemowlęta i małe dzieci), źródłem zatrucia pokarmowego była suszona fasola zwyczajna wykorzystywana do produkcji ciasta pasterskiego. Ognisko to miało miejsce w żłobku, do którego żywność dostarczała firma cateringowa. Analizy mikrobiologiczne wykazały obecność 2,0×106 jtk/g *B. cereus* w badanym produkcie. We Francji w latach 2007-2014 zarejestrowano 74 ogniska zatruć pokarmowych wywołanych przez *B. cereus* (Glasset i wsp., 2016)*.* Najczęstszymi nośnikami laseczek *B. cereus* była żywność zawierająca skrobię, a także warzywa. W krajach Unii Europejskiej w 2017 roku liczba zarejestrowanych ognisk pokarmowych powiązanych ze spożyciem zanieczyszczonej toksynami bakteryjnymi wynosiła 809, w tym 110 ognisk o udowodnionym silnym związku ze środkiem spożywczym (strong evidence). We wszystkich ogniskach z udziałem toksyn bakteryjnych uczestniczyły 8442 osoby, 577 hospitalizowano, a 5 zmarło. System rejestracji ognisk zatruć pokarmowych EFSA obejmuje toksyny produkowane przez *Bacillus, Clostridium* inne niż *C. botulinum* i*Staphylococcus*, a także inne nieokreślone toksyny bakteryjne. Kraje członkowskie Unii Europejskiej jako główne źródło ognisk zatruć pokarmowych wywołanych przez toksyny bakteryjne podają mięso i produkty mięsne oraz żywność mieszaną i produkty zbożowe. W latach 2010-2016 odnotowano 34 ogniska zudziałem mięsa i produktów mięsnych, 32 związane z żywnością mieszaną oraz 16 zproduktami zbożowymi (EFSA i ECDC, 2018).

**4. Metody izolacji i identyfikacji**

Poniżej wymienione metody izolacji dotyczą wykrywania obecności przypuszczalnych *Bacillus cereus*, a zatem są metodą izolacji zarówno dla *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis.*

PN-EN ISO 7932:2005 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby przypuszczalnych *Bacillus cereus*. Metoda liczenia kolonii w temperaturze 30ºC.

Badaniu poddaje się określoną naważkę próbki żywności. Przed wykonaniem analizy wykonuje się zawiesinę wyjściową badanej próbki oraz serię rozcieńczeń. Przygotowane inokulum zostaje naniesione na powierzchnię płytki z podłożem agarowym MYP  
z dodatkiem roztworu polimyksyny B oraz emulsją żółtka jajka. Po inkubacji obserwuje się charakterystyczne duże różowe kolonie otoczone strefą zmętnienia.

Dla wybranych charakterystycznych kolonii wykonywane są testy potwierdzające przynależność do grupy *B. cereus.* W celu sprawdzenia czy badany szczep zdolny jest do zniszczenia erytrocytów wykonuje się test na zdolność do hemolizy. Test może być wykonywany przez wkłucia lub punktowo na podłoże agarowe z krwią baranią.   
W przypadku zaobserwowania hemolizy na podłożu z krwią baranią (szerokość strefy hemolizy może się różnić) wynik testu uznajemy za dodatni.

Potwierdzenia przynależności jako potencjalne *B. cereus* dokonuje się poprzez wyniki dodatnie zarówno na podłożu MYP jak i poprzez potwierdzenie zdolności szczepu do hemolizy.

PN-EN ISO 21871:2007 Mikrobiologia żywności i pasz - Horyzontalna metoda oznaczania małych liczb przypuszczalnych *Bacillus cereus* - Wykrywanie obecności i oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby.

Podobnie jak w przypadku wcześniej wymienionej normy badaniu poddaje się określoną naważkę próbki żywności. Przed wykonaniem analizy wykonuje się zawiesinę wyjściową badanej próbki oraz rozcieńczenia.

Wykonuje się posiew do bulionu z peptonem tryptonowo-sojowym oraz polimyksyną (TSPB). Po inkubacji w określonych warunkach materiał badany posiewa się na pożywkę agarową PEMBA z polimyksyną, pirogeonianem, zółtkiem jaja, mannitolem oraz błękitem bromotymolowym bądź pożywkę agarową MYP z mannitolem, żółtkiem jaja i polimyksyną.

Po inkubacji oznacza się występowanie typowych kolonii o charakterystycznej morfologii oraz zabarwieniu. W przypadku zastosowania podłoża PEMBA typowe kolonie zostają potwierdzone za pomocą testu na wytwarzanie hemolizy na pożywce agarowej z krwią baranią lub poprzez badania przeżyciowe preparatów barwionych zielenią brylantową   
i roztworem Sudanu czarnego B. W przypadku zastosowania podłoża MYP typowe kolonie potwierdzane są za pomocą testu na wytwarzanie hemolizy.

**5. Legislacja**

- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, (Dz. Urz. UE  
L 338 z 22.12.2005, str. 1) z późniejszymi zmianami :

* Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 365/2010 z dnia 28 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych odnośnie do pałeczek jelitowych w mleku pasteryzowanym i innych pasteryzowanych płynnych produktach mlecznych oraz Listeria monocytogenes w soli spożywczej
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1086/2011 z dnia 27 października 2011 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz załącznik I do rozporządzenia Komisji (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do salmonelli w świeżym mięsie drobiowym
* Rozporządzenie Komisji (UE) nr 209/2013 z dnia 11 marca 2013 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do kryteriów mikrobiologicznych dotyczących kiełków i zasad pobierania próbek z tusz drobiowych i świeżego mięsa drobiowego
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/2285 z dnia 8 grudnia 2015 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającego szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi, w odniesieniu do określonych wymogów w odniesieniu do żywych małży, szkarłupni, osłonic i ślimaków morskich oraz załącznik I do rozporządzenia (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do Campylobacter w tuszach brojlerów
* Rozporządzenie Komisji (UE) 2019/229 z dnia 7 lutego 2019 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych w odniesieniu do niektórych metod, kryterium bezpieczeństwa żywności dla Listeria monocytogenes w skiełkowanych nasionach oraz kryterium higieny procesu i kryterium bezpieczeństwa żywności dla soków owocowych i warzywnych niepasteryzowanych (gotowych do spożycia)

- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2010 r. Nr 136 poz. 914)

- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia

28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności, Artykuł 14. pkt. 1 (Dz.Urz. UE L 31/1 z 1.2.2002, str. 1)

- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r. w sprawie kontroli urzędowych i innych czynności urzędowych przeprowadzanych w celu zapewnienia stosowania prawa żywnościowego i paszowego oraz zasad dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt, zdrowia roślin i środków ochrony roślin, zmieniające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001, (WE) nr 396/2005, (WE) nr 1069/2009, (WE) nr 1107/2009, (UE) nr 1151/2012, (UE) nr 652/2014, (UE) 2016/429 i (UE) 2016/2031, rozporządzenia Rady (WE) nr 1/2005 i (WE) nr 1099/2009 oraz dyrektywy Rady 98/58/WE, 1999/74/WE, 2007/43/WE, 2008/119/WE i 2008/120/WE, oraz uchylające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 854/2004 i (WE) nr 882/2004, dyrektywy Rady 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/WE, 96/93/WE i 97/78/WE oraz decyzję Rady 92/438/EWG (rozporządzenie w sprawie kontroli urzędowych)

**6. Piśmiennictwo**

Ash, C., Farrow, J. A., Dorsch, M., Stackebrandt, E., & Collins, M. D. (1991). Comparative analysis of Bacillus anthracis, Bacillus cereus, and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 41(3), 343-346.

Bavykin, S. G., Lysov, Y. P., Zakhariev, V., Kelly, J. J., Jackman, J., Stahl, D. A., & Cherni, A. (2004). Use of 16S rRNA, 23S rRNA, and gyrB gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of Bacillus cereus group microorganisms. Journal of clinical microbiology, 42(8), 3711-3730.

Carlson, C. R., Johansen, T., & Kolstø, A. B. (1996). The chromosome map of Bacillus thuringiensis subsp. canadensis HD224 is highly similar to that of the Bacillus cereus type strain ATCC 14579. FEMS microbiology letters, 141(2-3), 163-167.

Choma, C., Clavel, T., Dominguez, H., Razafindramboa, N., Soumille, H., Nguyen-the, C., & Schmitt, P. (2000). Effect of temperature on growth characteristics of Bacillus cereus TZ415. International journal of food microbiology, 55(1), 73-77.

Clavel, T., Carlin, F., Lairon, D., Nguyen‐The, C., & Schmitt, P. (2004). Survival of Bacillus cereus spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. Journal of applied microbiology, 97(1), 214-219.

Czubkowska, A. N. N. A., Rola, J. G., & Osek, J. A. C. E. K. (2013). Bacillus cereus-istotny czynnik zatruć pokarmowych u ludzi. Medycyna Weterynaryjna, 69(07).

Drobniewski, F. A. (1993). Bacillus cereus and related species. Clinical microbiology reviews, 6(4), 324-338.

EFSA i ECDC 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018;16(12):5500.

Ehling‐Schulz, M., Fricker, M., & Scherer, S. (2004). Bacillus cereus, the causative agent of an emetic type of food‐borne illness. Molecular nutrition & food research, 48(7), 479-487.

Ehling-Schulz, M., Guinebretiere, M. H., Monthán, A., Berge, O., Fricker, M., & Svensson, B. (2006). Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic Bacillus cereus. FEMS microbiology letters, 260(2), 232-240.

Forghani, F., Kim, J. B., & Oh, D. H. (2014). Enterotoxigenic Profiling of Emetic Toxin‐and Enterotoxin‐Producing Bacillus cereus, Isolated from Food, Environmental, and Clinical Samples by Multiplex PCR. Journal of food science, 79(11).

Frankland, G. C., & Frankland, P. F. (1887). Studies on some new micro-organisms obtained from air. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, 178, 257-287.

Ghosh, S., Zhang, P., Li, Y. Q., & Setlow, P. (2009). Superdormant spores of Bacillus species have elevated wet-heat resistance and temperature requirements for heat activation. Journal of bacteriology, 191(18), 5584-5591.

Glasset, B., Herbin, S., Guillier, L., Cadel-Six, S., Vignaud, M. L., Grout, J., Brisabois, A. (2016). Bacillus cereus-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. Eurosurveillance, 21(48).

Granum, P. E., O'sullivan, K., & Lund, T. (1999). The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from Bacillus cereus. FEMS Microbiology Letters, 177(2), 225-229.

Guinebretière, C. M. H., Auger, S., Galleron, N., Contzen, M., Sarrau, B., Buyser, M.L., Lambert, G., Fagerlund, A., Granum, P.E., Lereclus, D., De Vos, P., Nguyen-The, Ch., Sorokin A. (2013). Bacillus cytotoxicus sp. nov. is a novel thermotolerant species of the Bacillus cereus Group occasionally associated with food poisoning

Hakovirta, J. R., Prezioso, S., Hodge, D., Pillai, S. P., & Weigel, L. M. (2016). Identification and analysis of informative single nucleotide polymorphisms in 16S rRNA gene sequences of the Bacillus cereus group. Journal of clinical microbiology, 54(11), 2749-2756.

Hanson, M. L., Wendorff, W. L., & Houck, K. B. (2005). Effect of heat treatment of milk on activation of Bacillus spores. Journal of food protection, 68(7), 1484-1486.

Hariram, U., & Labbé, R. G. (2016). Growth and inhibition by spices of growth from spores of enterotoxigenic Bacillus cereus in cooked rice. Food Control, 64, 60-64.

Hauge, S. (1955). Food poisoning caused by aerobic spore‐forming bacilli. Journal of Applied Microbiology, 18(3), 591-595.

Helgason, E., Økstad, O. A., Caugant, D. A., Johansen, H. A., Fouet, A., Mock, M., ... & Kolstø, A. B. (2000). Bacillus anthracis, Bacillus cereus, and Bacillus thuringiensis—one species on the basis of genetic evidence. Applied and environmental microbiology, 66(6), 2627-2630.

Kim, J., & Foegeding, P. M. (1990). Effects of heat‐, CaCl2‐and ethanol‐treatments on activation of Bacillus spores. Journal of Applied Microbiology, 69(3), 414-420.

Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2000). Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections. Microbes and infection, 2(2), 189-198.

Lindbäck, T., Fagerlund, A., Rødland, M. S., & Granum, P. E. (2004). Characterization of the Bacillus cereus Nhe enterotoxin. Microbiology, 150(12), 3959-3967.

Lund, T., De Buyser, M. L., & Granum, P. E. (2000). A new cytotoxin from Bacillus cereus that may cause necrotic enteritis. Molecular microbiology, 38(2), 254-261.

Martínez-Blanch, J. F., Sánchez, G., Garay, E., & Aznar, R. (2009). Development of a real-time PCR assay for detection and quantification of enterotoxigenic members of Bacillus cereus group in food samples. International journal of food microbiology, 135(1), 15-21.

Messelhäusser, U., Frenzel, E., Blöchinger, C., Zucker, R., Kämpf, P., & Ehling-Schulz, M. (2014). Emetic Bacillus cereus are more volatile than thought: recent foodborne outbreaks and prevalence studies in Bavaria (2007–2013). BioMed research international, 2014.

Oder, M., Stražar, E., & Filip, S. (2017). Efficacy of cleaning methods for the removal of Bacillus cereus biofilm from polyurethane conveyor belts in bakeries. Food Control, 80, 267-272.

Oosthuizen, M. C., Steyn, B., Theron, J., Cosette, P., Lindsay, D., von Holy, A., & Brözel, V. S. (2002). Proteomic analysis reveals differential protein expression by Bacillus cereus during biofilm formation. Applied and Environmental Microbiology, 68(6), 2770-2780.

Ramarao, N., & Sanchis, V. (2013). The pore-forming haemolysins of Bacillus cereus: a review. Toxins, 5(6), 1119-1139.

Thorne, C. B. (1993). Bacillus anthracis. In Bacillus subtilis and other Gram-positive Bacteria (pp. 113-124). American Society of Microbiology.

Vilain, S., Luo, Y., Hildreth, M. B., & Brözel, V. S. (2006). Analysis of the life cycle of the soil saprophyte Bacillus cereus in liquid soil extract and in soil. Applied and environmental microbiology, 72(7), 4970-4977.

*Opracował zespół: Joanna Kowalska, Elżbieta Maćkiw, Monika Stasiak, Katarzyna Kucharek*